

SEROLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN
ÜBER DAS VORKOMMEN UND DIE
VERBREITUNG VON REOVIRUSINFEKTIONEN
IN BAYERISCHEN SCHWEINEBESTÄNDEN

Peter M. Wunderlich

1972

Aus dem Institut für Mikrobiologie und
Infektionskrankheiten der Tiere
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Vorstand: Professor Dr. A. Mayr

SEROLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DAS
VORKOMMEN UND DIE VERBREITUNG VON REOVIRUSINFEKTIONEN
IN BAYERISCHEN SCHWEINEBESTÄNDEN

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Peter M. Wunderlich

aus

Beuthen

München 1972

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. J. Boessneck

Referent: Prof. Dr. A. Mayr

Korreferent: Prof. Dr. J. Kalich

Tag der Promotion: 11.2.1972



Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. EINLEITUNG	1
2. SCHRIFTTUM	3
2.1. Begriffsbestimmung	3
2.2. Allgemeine Charakterisierung und Systematisierung der Reoviren	3
2.3. Reoviren der Säuger	6
2.4. Reoviren beim Schwein	11
2.4.1. Virusisolierungen	11
2.4.2. Serologischer Nachweis von Reovirusinfektionen beim Schwein	12
2.4.3. Beziehung zwischen Infektion und Krankheit	15
2.4.4. Experimentelle Untersuchungen mit Reoviren im Schwein	16
2.4.5. Bekämpfung	18
3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	
3.1. Material und Methoden	19
3.1.1. Virusmaterial	19
3.1.1.1. Virusstämme	19
3.1.1.2. Viruszüchtung	20
3.1.1.3. Virustitrierung	21
3.1.2. Zellkulturen	21
3.1.3. Serum	23
3.1.3.1. Herkunft der Seren	23
3.1.3.2. Behandlung der Seren	24

	Seite
3.1.3.2. 1. Allgemeines	24
3.1.3.2. 2. Inhibitorbehandlungen	24
3.1.4. Hämagglutinationshemmungstest (HAH)	26
3.1.4.1. Mikrotest	27
3.1.4.2. Röhrchenteste	27
3.2. Ergebnisse	28
3.2.1. Voruntersuchungen	28
3.2.1.1. Inhibitorbehandlungen	28
3.2.1.2. Vergleich von Mikro- und Röhrchentesten	29
3.2.2. Ergebnisse der Hämagglutinations- hemmungsteste	31
4. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE	34
5. ZUSAMMENFASSUNG	37
6. TABELLEN	40
7. ABBILDUNGEN	49
8. LITERATURVERZEICHNIS	51
9. LEBENSLAUF	62

Serologische Untersuchungen über das Vorkommen
und die Verbreitung von Reovirusinfektionen in
bayerischen Schweinebeständen

1. Einleitung

Durch die Umgestaltung der landwirtschaftlichen Betriebsweise sowie durch die moderne Chemotherapie und Impfprophylaxe verlieren die durch spezifische Erreger hervorgerufenen Seuchen immer mehr an Bedeutung. Demgegenüber kommen Infektionen hoch, die nur im Zusammenwirken mit anderen belebten wie unbelebten Faktoren zu Erkrankungen führen. Am Zustandekommen derartiger "Faktorenerkrankungen" sind häufig Virusarten beteiligt, für die das klassische Postulat der Infektionslehre nicht mehr zutrifft, d.h. sie vermögen gesunde Tiere nicht krank zu machen. Erst wenn resistenzmindernde Faktoren dazukommen, sogenannte "Stressoren", können sie sich gegenüber den Abwehrreaktionen des Körpers durchsetzen und zu Krankheit und Tod führen. Es gibt eine ganze Reihe derartiger Virusarten. Sie kommen weit verbreitet in unseren Tierbeständen vor und führen in der Regel zu klinisch inapparenten Infektionen.

Hierher gehören auch die Reoviren. Sie befallen Mensch, Säugetiere, Vögel, Fische und Pflanzen. Über ihre Verbreitung beim Schwein ist jedoch noch wenig bekannt. Aufgabe vorliegender Arbeit war es deshalb, mit Hilfe serologischer Verfahren das Vorkommen und die Verbrei-

tung von Reovirusinfektionen in bayerischen Schweinebeständen zu untersuchen.

2. Schrifttum

2.1. Begriffsbestimmung:

Die Reoviren bilden auf Grund ihrer morphologischen und chemisch-physikalischen Eigenschaften eine gut von anderen Virusarten abgesetzte, relativ einheitliche Virusgruppe (62).

Die Reoviren sind ca. 70 - 77 nm groß, kubisch aufgebaut und besitzen keine Hülle (28,38,45,52,54,83). Im Gegensatz zu den anderen nackten, kubisch aufgebauten RNS-Viren besitzen sie eine doppelsträngige RNS (12,15,37):

Die Reoviren kommen, außer bei den Säugetieren und dem Geflügel, auch bei Vögeln, Kaltblütern, Insekten und Pflanzen vor.

Reovirusinfektionen verlaufen bei den Säugetieren in der Regel klinisch inapparent; spezifische Erkrankungen konnten ihnen noch nicht zugeordnet werden (40,58,61,76). Gewöhnlich besitzen die Reoviren jedoch eine besondere Affinität zum Respirations- und Digestionstrakt, was ihnen auch den Namen gab (respiratoric enteric orphan virus) (62).

2.2. Allgemeine Charakterisierung und Systematisierung der Reoviren

Die Reoviren können nach ihrem Wirtsspektrum in 5 Untergruppen gegliedert werden (Tabelle 1):

1. Reoviren der Säugetiere

(6,16,20,23,24,25,31,35,36,40,41,44,46,47,56,58,
64,73,74),

2. Reoviren der Vögel

(32,33,50,88),

3. Reoviren der Kaltblüter

(51,74,86),

4. Reoviren der Insekten

(50,53),

5. Reoviren der Pflanzen

(4,13,14,34,49,76,77,78).

Trotz des breiten Wirtsspektrums besitzen alle Reoviren die gleichen morphologischen und chemisch-physikalischen Eigenschaften, die es erlauben, sie in einer einheitlichen Virusgruppe zusammenzufassen (62).

Sie sind kleine, kubisch aufgebaute, nackte Viren. Ihr Durchmesser liegt zwischen 70 (65) und 77 nm (28,45,52, 54,83). Das Virion enthält eine doppelsträngige Ribonukleinsäure (RNS). Der RNS-Anteil ist relativ hoch, er beträgt ca. 14 % (2,12,13,34,37). Die RNS hat ein Molekulargewicht von ca. 15×10^6 . Sie besteht aus 10 verschiedenen Segmenten, die wiederum auf Grund ihres Molekulargewichtes in 3 Gruppen unterteilt werden können (3L, 3M- und 4S-Segmente). Das Innere des Nukleokapsides hat einen Durchmesser von 35 bis 45 nm;

es enthält neben der Nukleinsäure ca. 2.000 Moleküle Oligonukleotide, die aus 2 bis 20 Nukleotiden zusammengesetzt sind (27).

Das Kapsid ist aus 7 unterschiedlichen Polypeptiden kubisch aufgebaut. Es hat eine icosaedrale Symmetrie (5:3:2). Die Kapsomeren, leere Hohlzylinder mit 5- bzw. 6-eckiger Grundfläche, sind so angeordnet, daß 80 Kapsomeren hexagonal und die restlichen 12 pentagonal an den Ecken plaziert sind. Sie sind in einer elektronendichten, inneren Kapsidschicht verankert, die nach Entfernung der Kapsomeren als ein maschendraht-ähnliches Geflecht erscheint. Im elektronenmikroskopischen Bild kann man aus diesem Grunde eine "innere" und eine "äußere" Kapsidschicht unterscheiden. Diese Art der Konstruktion verleiht dem Virion eine ausgezeichnete Stabilität, die in der antigenen Stabilität der Reoviren ihren Ausdruck findet (28,38,45,83).

Alle Reoviren sind äther- und chloroformstabil. Sie sind in einem weiten Bereich unempfindlich gegen pH -Veränderungen (pH 2,2 - 8,0) (31,32,55,62,69,70,76).

Reoviren sind thermostabil, wobei die Thermostabilität durch die Anwesenheit von Mg-Ionen erhöht wird. Unter normalen Bedingungen werden Reoviren bei 37° C innerhalb von 3 Wochen und bei 56° C in 2 Stunden inaktiviert. Nach Zugabe von Mg-Ionen bleibt die Infektiosität dagegen bei 50° C über 60 Minuten erhalten (67,76,85).

2.3. Reoviren der Säuger

Die Reoviren der Säuger besitzen auf zellulärer Basis ein breites Wirtsspektrum. Ihre Anzüchtung gelingt in Kulturen unterschiedlicher Herkunft. Die besten Vermehrungsbedingungen scheinen jedoch in Affennierenkulturen (primär oder permanent, z.B. Vero-Zellstamm) vorzuliegen (26,31,60,70,72).

Die Vermehrung in Zellkulturen erfolgt unter Ausbildung eines cytopathischen Effektes. Neu isolierte Stämme benötigen einige Adaptierungspassagen. In der ersten Zellkulturpassage treten cytopathische Veränderungen oft erst nach 3-wöchiger Bebrütungszeit auf. Diese Spanne verkürzt sich in der zweiten Passage auf ca. 10 Tage und beträgt danach in der Regel nur 5 bis 7 Tage (Serotyp 3: 2 bis 3 Tage).

Die cytopathischen Veränderungen sind wenig charakteristisch. Ungeübten bereitet es häufig Schwierigkeiten, sie von unspezifischen Alterungserscheinungen zu unterscheiden. Die Zellen granulieren, sie kugeln sich teilweise ab, allerdings nicht so ausgeprägt wie z.B. nach einer Infektion mit Picornaviren, und werden schließlich lysiert (31,42,47,60,62,65).

Die Reoviren bilden eosinophile intraplasmatische Einschlusskörperchen, die bevorzugt in Kernnähe gelegen sind. Mit Acridin-Orange färben sich diese Einschlüsse, bedingt durch die Doppelhelix der RNS, gelbgrün an. Sie reagieren Feulgen-negativ. (7,8,11,31,41,42,54,62).

Im elektronenmikroskopischen Bild kann häufig beobachtet werden, daß sich die reifen Viruspartikelchen in Kristallgittern anordnen. Da diese ebenfalls meist in Kernnähe anzutreffen sind, wird angenommen, daß sie im Lichtmikroskop als Einschlußkörperchen erscheinen (18,31,80).

Die Reoviren vermehren sich infolge ihres breiten Wirtsspektrums in allen Versuchstieren sehr gut. (22,30,39,56,69,70,76,81,82). Klinische Erkrankungen werden dabei allerdings kaum beobachtet. Das Angehen der Infektion kann im Experiment meist nur durch den Nachweis des Anstiegs von Antikörpern festgestellt werden (3,31,35,36,48,56).

Das Versuchstier der Wahl ist die Babymaus. Bei der akuten Verlaufsform erkranken die Tiere an Diarrhoea und Hepatitis, wobei rein äußerlich das durch die Stoffwechselstörungen bedingte ölige Haarkleid (oily hair effect) ins Auge fällt. Pathologisch-anatomische Veränderungen bestehen in Nekrosen in der Leber und Vergrößerung der Gallenblase. Die chronische Form wird durch Kachexie, Wachstumsstörungen, sowie Nekrotisierungen im Pankreas und fibroblastische Reaktionen in den Muskeln (Herzmuskel) charakterisiert. Daneben können aber auch Störungen im Zentralnervensystem auftreten, die besonders dann stärker ausgeprägt sind, wenn eine Infektion mit dem murinen Stamm des Serotypes 3 vorliegt, der als "Hepatoencephalomyelitis-

virus" bezeichnet wird (6,22,29,69,70,71,72,75,76, 82,84).

Die Symptomatik einer Reovirusinfektion in der Säuglingsmaus ist für alle 3 Serotypen ungefähr gleich. Unterschiede bestehen nur insofern, als die Morbidität und Mortalität für Reo-3-Infektionen höher liegen (75,84).

Die Reoviren der Säugetiere besitzen ein gemeinsames gruppenspezifisches Antigen, das durch die Komplexbindungsreaktion (KBR) und die Präzipitation im Agar-gel-Immunodiffusionstest erfaßt wird (31,62).

Daneben enthalten die Reoviren in ihrem Kapsid ein Hämagglutinin, das typspezifisch ist (21,57,60).

Die hämagglutinierende Komponente der 3 Serotypen vermag humane Erythrozyten zu agglutinieren, die des Serotyps 3 überdies Rindererythrozyten (5,9,17,76). Der Serotyp 3 nimmt auch anderweitig eine gewisse Sonderstellung ein. Die bei den Reoviren häufig auftretenden Überlappungen im serologischen Testen werden öfter zwischen den Serotypen 1 und 2 beobachtet (55,59). Der Serotyp 3 besitzt außerdem eine höhere Virulenz für die Maus (75,76,84). Ein Vergleich des prozentualen Anteils von Reo-3-Infektionen bei verschiedenen Tierarten scheint außerdem auf eine größere Kontagiosität dieses Serotyps zu deuten.

Viele humane und tierische Seren enthalten unspezifische Inhibitoren gegen das Hämagglutinin der Reoviren.

Sie werden in der Regel durch Vorbehandlung mit Kaolin entfernt (43,57).

Typendifferenzierungen können daneben auch mit Hilfe des Neutralisationstestes durchgeführt werden (62,70), doch sind die Ergebnisse oft nicht so eindeutig und klar zu interpretieren, wie die des Hämagglutinationshemmungstestes. Für serologische Routineuntersuchungen wird aus diesem Grunde bevorzugt der letztere Test verwendet (10,60).

Über die Pathogenese der Reovirusinfektionen ist noch sehr wenig bekannt. Selten konnten spezifische Erkrankungen in einen ursächlichen Zusammenhang mit einer Reovirusinfektion gebracht werden (87). So wurde z.B. der Serotyp 1 von jungen Rindern während einer fieberhaften Erkrankung im Winter isoliert. Bei der künstlichen Übertragung auf 6 bis 12 Wochen alte Kälber konnte eine milde respiratorische Erkrankung der Versuchstiere beobachtet werden (81). Den gleichen Serotyp fand man in Affen und Schweinen (31,47). Auch aus einem kranken Hund konnte der Serotyp 1 isoliert werden. Wurden mit diesem Virus Welpen infiziert, erkrankten sie unter ähnlichen Symptomen (39).

Der Serotyp 2 wurde aus Rindern mit einer Diarrhoe, aus Schimpansen mit epidemischen Schnupfen (61) und aus der Lunge eines Affen mit Pneumonie herausgezüchtet (22,23,24).

Der Serotyp 3 wurde bei Kälbern mit fieberhaften respiratorischen und enteritischen Erkrankungen gefunden.

Alle bisher isolierten Reovirus-Stämme deuten auf eine besondere Affinität dieser Virusart für den Respirations- und Digestionstrakt hin. Auf diese Eigenschaft ist die Benennung dieser Virusgruppe als "respiratoric enteric orphan viruses" zurückzuführen (62).

Nach serologischen Untersuchungen bei Mensch und Tier sind Reovirusinfektionen sehr weit verbreitet (19,63, 74,76,79). Man kann daraus schließen, daß die klinisch inapparente Verlaufsform überwiegt.

2.4. Reoviren beim Schwein

2.4.1. Virusisolierungen

1970 berichteten unabhängig voneinander Kasza (31) und McFerran et al. (47) über eine gelungene Isolierung von Reoviren aus Nasentupfern bzw. Kotproben von Schweinen.

Kasza untersuchte gesunde Schweine in monatlichen Abständen vom 10. Lebenstag bis zur Schlachtung im Alter von ungefähr 5 Monaten. Durch die Verimpfung von Kot- und Nasentupferproben auf eine Schilddrüsenadenokarzinom-Zelllinie vom Hund, konnte er aus 760 Proben 20 mal Reoviren isolieren (12 mal aus Kotproben, 8 mal aus Nasentupfern). Das Alter der Tiere, bei denen Reoviren gefunden wurden, lag zwischen 3 1/2 und 5 Monaten.

Nach einigen Adaptierungspassagen vermehrten sich die Isolate auch in primären Schweinelungen- und Affennierenkulturen mit einem deutlichen cpE, in primären Schweinenieren-, Kälbernieren-, embryonalen Pferdezell-, HeLa- und embryonalen humanen Lungenkulturen mit mäßig deutlichen Veränderungen.

Die Charakterisierung als Reovirus erfolgte durch die Komplementbindungsreaktion, elektronenoptisch, durch den Nachweis intraplasmatischer Einschlusskörperchen, sowie durch die Feulgen- und Acridin-Orange-Färbung,

weiterhin durch den Nachweis der Chloroform-, Äther- und Thermostabilität. Als weitere Kriterien für die Zugehörigkeit zu der Gruppe der Reoviren dienten die Hämagglutination humaner Erythrozyten der Blutgruppe "O" und von Schweineerythrozyten. Mit Hilfe des Neutralisationstestes und des Hämagglutinationshemmungstestes ließen sich die Isolate dem Serotyp 1 zuordnen, wobei allerdings in beiden Testsystemen leichte Mitreaktionen mit dem Serotyp 3 beobachtet wurden.

McFerran et al. (47) beschrieben die Anzüchtung eines Reovirus aus der Kotprobe eines 14 Wochen alten, gesunden Ferkels. Das Tier stammte von einer Farm, in deren Schweinepopulationen wiederholt milde respiratorische Erkrankungen und leichte Durchfälle bei den Ferkeln aufgetreten waren. Die Isolierung dieses Stammes gelang über die Verimpfung der Proben auf primäre Schweinenierenkulturen. Die Methoden zur Charakterisierung als Reovirus waren in etwa die gleichen wie bei Kasza. Die serologische Testung des Stammes ergab die Zugehörigkeit zum Serotyp 1.

2.4.2. Serologischer Nachweis von Reovirusinfektionen beim Schwein

Reovirusinfektionen bei Schweinen können, ebenso wie beim Menschen und anderen Tierarten, am besten und schnellsten durch den Nachweis hämagglutinationshemmender Antikörper festgestellt werden (60).

Schweineseren besitzen zwar unspezifische Inhibitoren gegen Reoviren, doch können diese durch entsprechende Vorbehandlungen entfernt werden. Die Mehrzahl der vorliegenden Befunde über das Vorkommen und die Verbreitung von Reoviren beim Schwein sind deshalb mit Hilfe des HAH-Testes erlangt worden.

Der erste Bericht über das Vorkommen von Reovirusinfektionen beim Schwein stammt von Rosen (57). Er untersuchte 1959 eine große Zahl von Seren verschiedener Tierarten. Angaben über das Ausmaß dieser Infektion in Schweinebeständen konnte er damals noch nicht machen.

Spradbrow (58) testete 1966/67 in Australien die Seren von 200 Schlachtschweinen. Er fand, daß ca. 61 % (HAH-Titer 1 : 20 und größer) bis 71 % (positive Serumtiter ab 1 : 10) der Schlachtschweine im HAH-Test positiv mit Reoviren reagierten. Nur ca. 40,5 % besaß dabei Antikörper gegen nur einen Serotyp, während bei 23,5 % Antikörper gegen 2 Serotypen und bei 7 % gegen alle 3 Serotypen nachgewiesen wurden. Serumtiter gegen den Serotyp 3 waren am häufigsten (61,5 %). Infektionen gegen den Serotyp 1 waren bei 20,5 % und gegen den Serotyp 2 bei 25,5 % vertreten. Eine besondere geographische Verteilung der positiven Tiere oder der Serotypen wurde nicht beobachtet.

Kasza (31) untersuchte in monatlichen Abständen die Seren aller Tiere, die aus der Herde stammten, aus der

ihm die Isolierung von Reoviren gelungen war, im Neutralisationstest. Er fand dabei, daß alle Ferkel bis zum 12. Lebenstag kolostrale Antikörper besaßen. In den folgenden 3 Lebensmonaten konnte er keine Antikörper gegen Reoviren nachweisen. Die Bildung eines aktiven Immunschutzes begann im 3. Lebensmonat und nahm bis zum Zeitpunkt der Schlachtung (5./7. Monat) laufend zu. Fast alle Schlachtschweine besaßen Serum-titer gegen Reoviren. Die Muttersauen reagierten während der gesamten Beobachtungszeit positiv.

In 18 weiteren Herden lag der Anteil der Tiere, die mit Reoviren, Serotyp 1, infiziert waren, bei ca. 80 % (Tiere mit inkompletter Neutralisation eingeschlossen) bzw. 50 % (Anteil der Tiere mit kompletter Neutralisation). Das durchschnittliche Alter dieser Tiere lag bei 5 bis 7 Monaten.

Bei der Untersuchung von über 2.000 Schweineseren aus fast allen Grafschaften Großbritanniens fanden auch Harkness et al. (19) einen hohen Prozentsatz von Tieren, die Antikörper gegen Reoviren besaßen. In 57,5 % der untersuchten Herden gab es positive Tiere. 37,5 % aller Tiere reagierten mit dem Serotyp 1, 31,3 % mit dem Serotyp 2 im HAH-Test positiv (Serumtiter ab 1 : 40). 22,4 % enthielt Antikörper gegen beide Serotypen. Der Serotyp 3 wurde bei diesen Untersuchungen nicht verwendet.

Die Autoren konnten keine Beziehungen zwischen Tierdichte und der Häufigkeit von Reovirusinfektionen beobachten. Dafür stellten sie fest, daß der Serotyp 1 in England überwog, während der Serotyp 2 mehr in Wales und Schottland anzutreffen war.

2.4.3. Beziehung zwischen Infektion und Krankheit

Alle bisher erhaltenen Befunde deuten auf eine weite Verbreitung von Reovirusinfektionen beim Schwein hin (19,31,47,68). Umgekehrt aber sind keine Erkrankungen von Schweinen bekannt geworden, die mit einer Reovirusinfektion in Zusammenhang gebracht werden konnten (31,47). Das heißt, Infektionen mit Reoviren laufen gegenwärtig in unseren Schweinepopulationen klinisch inapparent ab. Trotzdem kann nicht ausgeschlossen werden, daß auch die Reoviren als Krankheitserreger eine Rolle spielen. Wie die Erfahrungen der letzten Jahrzehnte gelehrt haben, rücken durch die Umschichtung der landwirtschaftlichen Betriebsweise und die moderne Chemotherapie und Immunprophylaxe immer stärker Erreger in den Vordergrund, die ohne das Zusammenwirken mit inneren und äußeren Stressfaktoren allein keine Krankheit auszulösen vermögen. Allen Anschein nach gehören die Reoviren in die Gruppe der Erreger von "Faktorerkrankungen".

2.4.4. Experimentelle Untersuchungen mit Reoviren im Schwein

Experimentell konnten gesunde Schweine durch eine Reovirusinfektion nicht krank gemacht werden. Dabei war es gleichgültig, ob die verwendeten Virusstämme vom Schwein oder vom Mensch stammten und wie stark sie bereits an Zellkulturen adaptiert waren (3,31,48).

Kasza (31) infizierte mit der 4. Zellkulturpassage des von ihm aus einem gesunden Schwein isolierten Reovirusstammes (Serotyp 1) gnotobiotische Ferkel im Alter von 4 Wochen. Die Tiere zeigten keine klinischen Symptome, pathologisch-anatomisch konnten keine Veränderungen nachgewiesen werden. Daß die Infektion gehaftet hatte, ließ sich durch die Reisolierung von Virus aus Gehirn, Lunge, Milz, Leber und aus dem Darmtrakt nachweisen. Die Reisolierungen gelangen bis zum 14. Tag p.inf. Die Serumneutralisationstiter der experimentell infizierten Tiere stiegen auf Werte von 1 : 128 und höher.

In einem ersten Versuch beobachtete McFerran (47) nach der intranasalen Infektion von 6 Wochen alten, konventionell aufgezogenen Ferkeln mit seinem Reovirusstamm PH 562 eine leichte und kurzdauernde Temperaturerhöhung und einen 4-fachen Titeranstieg der hämagglutinationshemmenden Antikörper. Reisolierungen aus dem Respirations- und Digestionstrakt waren bis zum 14. Tag

p.inf. möglich. Auch aus Kontakttieren konnte in diesem Zeitraum Virus isoliert werden.

In einem zweiten Versuchsansatz wurden 16 4 Wochen alte , pathogenfreie (spf-) Ferkeln über ein Aerosol mit dem gleichen Reovirusstamm vom Schwein (PH 562) inokuliert (3). Auch in diesem Experiment konnten, bis auf einen leichten Temperaturanstieg, keine klinischen Störungen registriert werden. Das histologische Bild der Lunge zeigte geringgradig ausgebildete Anzeichen einer beginnenden interstitiellen Pneumonie mit leichter Beteiligung der umliegenden Lymphknoten. Die histologischen Veränderungen entwickelten sich ab dem 3. Tag p.inf. und erreichten am 6. Tag p.inf. ihren Höhepunkt. Die Reisolierung von Virus war aus dem Respirations- und Digestionstrakt möglich. Die hämagglutinationshemmenden Antikörper nahmen im Verlauf des Versuches signifikant zu.

Die intranasale Applikation des humanen Reovirusstammes, Serotyp 1, "Lang", vermochte bei sechs 8 Wochen alten Ferkeln, die vor Versuchsbeginn auf ihr Freisein von Reovirusinfektionen geprüft worden waren, keine klinische Erkrankung hervorzurufen. Auch in diesem Experiment trat nur eine geringfügige Temperaturerhöhung auf. Virus konnte während der gesamten Versuchsdauer (bis zum 14. Tag p.inf.) reisoliert werden. Alle Tiere zeigten einen signifikanten Anstieg ihrer Serumtiter.

Die gleichen Befunde brachten 2 Kontakttiere. Virus konnte mit einer leichten zeitlichen Verschiebung isoliert werden, auch bei ihnen stiegen die Antikörperwerte signifikant an (48).

Da die Virusisolierungen hauptsächlich aus dem Kot und seltener aus Nasentupfern gelungen waren, schließen die Autoren, daß die Übertragung von Reoviren weniger durch Tröpfcheninfektion, als durch die orale Aufnahme erfolgt (48).

2.4.5. Bekämpfung

Da die Reoviren beim Schwein keine spezifische Erkrankung hervorrufen, sind entsprechende Bekämpfungsverfahren noch nicht entwickelt worden. Im Hinblick auf ihre mögliche Rolle als Erreger von Faktorenerkrankungen, muß aber doch geprüft werden, ob es nicht sinnvoll wäre, sie, ähnlich wie beim Rind (66), über eine prophylaktische Schutzimpfung zu bekämpfen.

3. Eigene Untersuchungen

3.1. M a t e r i a l u n d M e t h o d e n

3.1.1. Virusmaterial

3.1.1.1. Virusstämme

Als Virusstämme für die serologische Untersuchungen benutzten wir:

1. Serotyp 1, Stamm "Lang"^{x)} in der 1. Passage in Affennieren und in der 6. Passage in Verozellen (African green monkey kidney cell line), Infektiositätstiter: $10^{4,75} \text{KID}_{50}/0,1 \text{ ml}$; Hämagglutinationstiter: 1 : 64.
2. Serotyp 2, Stamm "Jones" in der 1. Passage in Affennieren und in der 6. Passage in Verozellen, Infektiositätstiter: $10^{7,25} \text{KID}_{50}/0,1 \text{ ml}$; Hämagglutinationstiter: 1 : 128.
3. Serotyp 3, Stamm "Dearing" in der 1. Passage in Affennieren und der 5. Passage in Verozellen, Infektiositätstiter: $10^7 \text{KID}_{50}/0,1 \text{ ml}$; Hämagglutinationstiter: 1 : 16.

x) Für die Überlassung der Virusstämme danken wir Herrn D.H. Lamont vom Central Veterinary Laboratory New Haw, Weybridge, Surrey.

3.1.1.2. Viruszüchtung:

Die Vermehrung der Virusstämme wurde in Verozellen durchgeführt. Die Infektion der Gewebekulturen erfolgte einmal auf herkömmliche Art durch Zugabe von virushaltiger Gewebekulturflüssigkeit direkt in das Erhaltungsmedium. Die Impfdosis betrug für Röhrchenkulturen 0,1 ml, für Vierkantflaschen 1 ml und für Rouxschalen 5 ml. Der Serotyp 3, "Dearing" wurde daneben auch nach dem Adsorptionsverfahren vermehrt:

Bei dieser Beimpfungsmethode wird von dem dichten Zellrasen das Anzuchtmedium entfernt und durch virus-haltige Gewebekulturflüssigkeit ersetzt.

(Impfdosis: 20 ml für Rouxschalen, 5 ml für Vierkantflaschen, 1 ml für Röhrchen).

Das so beimpfte Kulturgefäß wird 4 Stunden bei 37° C inkubiert, danach das Animpfmaterial abgesaugt und durch die übliche Menge Erhaltungsmedium ersetzt. Alle beimpften Kulturen wurden je nach Schnelligkeit des sich entwickelnden cpE 4 bis 9 Tage bei 37° C bebrütet.

Die Virusernte erfolgte durch Einfrieren der beimpften Kulturgefäße. Die geernteten Virusmaterialien wurden auf ihre Infektiosität, ihre hämagglutinierende Aktivität und auf das Freisein von bakteriellen Kontaminationen geprüft und anschließend in kleinen Portionen abgefüllt bei -20° C gelagert.

3.1.1.3. Virustitrierung:

Alle Titrierungen der Infektiosität wurden in Röhrchenkulturen von Verozellen durchgeführt.

Von den in 10er Potenzen verdünnten Virusmaterial wurden hierfür jeweils 4 Kulturröhrchen pro Verdünnungsstufe mit je 0,1 ml beimpft. Die Ablesung erfolgte an Hand des cpE bis zum 14. Tag post infectionem.

Die Berechnung der Infektiositätstiter wurde nach der Methode von Behrens und Kärber vorgenommen.

Für die Bestimmung der hämagglutinierenden Aktivität der Virusernten titrierten wir virushaltige Gewebekulturflüssigkeit in Röhrchen bzw. Mikroplatten (0,3 ml bzw. 0,025 ml) in 2er Potenzen und gaben die gleiche Menge einer 1%igen (Mikroteste) bzw. 0,5%igen (Röhrchenteste) Erythrozytensuspension (humane Erythrozyten der Blutgruppe "O") zu.

Nach Absetzen der Erythrozyten (15 bzw. 45 Minuten je nach Art des angewandten Testsystems) wurde abgelesen. Als Hämagglutinationstiter wurde die letzte Verdünnungsstufe gewertet, bei der eine totale Hämagglutination der Erythrozyten eingetreten war.

3.1.2. Zellkulturen:

Als Zellkulturen dienten ausschließlich Vero- (African green monkey kidney cell line) Zellen. Sie wurden wie folgt subkultiviert. Von den dichten Kulturen in Roux-Flaschen bzw. Vierkantflaschen wurde

das Medium abgegossen und der Zellrasen mit 0,02 %igem Versene bedeckt. Nach ca. 5 Minuten im Brutschrank löste sich der größte Teil des Zellrasens. Verbleibende Zellreste ließen sich durch leichtes Schütteln ablösen. Die Zellsuspension wurde 5 Minuten bei 600 - 800 Umdrehungen/Min. zentrifugiert.

Das Sediment wurde in etwas Aufzuchtmedium aufgenommen (5ml) und gründlich durchpipettiert.

Danach ist die Zellsuspension in eine entsprechende Menge Anzuchtmedium verbracht und in Kulturgefäße abgefüllt worden. Der verwendete Vero-Zellstamm ließ sich im Verhältnis 1 : 2 vermehren. Er benötigte 2 Tage bis zum Auswachsen eines dichten Zellrasens.

Als Anzuchtmedium diente eine Lösung aus

Hank'scher Salzlösung mit

10 % Kälberserum,

10 % Laktalbuminhydrolysat (0,5 %ig),

1,5 % Phenolrot,

0,6 % NaHCO_3 (10 %ig),

100 I.E. Penicillin und

100 γ Dihydrostreptomycin / ml.

Als Erhaltungsmedium verwendeten wir Leibowitz Medium Nr. 15.

3.1.3. Serum

3.1.3.1. Herkunft der Seren

Für die Untersuchung im Hämagglutinationshemmungstest verwendeten wir die Seren von Schweinen verschiedener Herkunft.

1. 230 Seren von Schlachtschweinen aus dem Einzugsgebiet des Münchner Schlachthofes aus den Jahren 1968/69 ("Münchener" Seren 1968/69).

2. 156 Seren von Schlachtschweinen aus 83 Beständen Schwabens, Niederbayerns und Oberbayerns ("bayerische" Seren 1968/69).

3. 114 Seren von Schlachtschweinen aus den Jahren 1970/71, die aus Beständen mit Problemen in der Ferkelaufzucht und vermehrten Auftreten von respiratorischen Erkrankungen stammten ("Münchener" Seren 1970/71).

Als negatives Kontrollserum diente ein Mischserum von keimfrei aufgezogenen Ferkeln.^{x)}

Sämtliche Tiere unterlagen vor und nach der Schlachtung einer Schlachttier- und Fleischschau.

Bis auf die 3. Gruppe von Seren, bei der vermehrt Tiere mit pneumonischen Veränderungen in der Lunge gefunden wurden, wies keines der Tiere klinische oder pathologisch-anatomische Veränderungen auf.

^{x)} Für die Überlassung der Seren sind wir Herrn Dr. Sichel von der spf-Ferkelaufzuchtstation Marbach/Neckar zu Dank verpflichtet.

Die Blutentnahme erfolgte aus der durchtrennten Vena jugularis. Die Blutproben wurden einige Stunden gelagert und anschließend durch Zentrifugieren über 30 Min. bei 300⁰ Umdrehungen/Min. vom Blutkuchen befreit. Bis zum Gebrauch wurden die Seren bei - 20⁰ C gelagert.

3.1.3.2. Behandlung der Seren

3.1.3.2.1. Allgemeines

Alle Seren werden grundsätzlich vor der Verwendung im HAH-Test 30 Min. bei 56⁰ C im Wasserbad inaktiviert. Außerdem unterlagen alle Seren einer Behandlung zur Absorption der Isoagglutinine. Zu diesem Zweck mischten wir Seren, die nicht gegen unspezifische Inhibitoren behandelt werden sollten, im Verhältnis 1 : 4 mit einer 10 %igen Erythrozytensuspension. Seren, bei denen eine Inhibitorbehandlung durchgeführt worden war, versetzten wir nach Abschluß dieser Prozedur mit einer 50 %igen Erythrozytensuspension in entsprechender Menge, um eine unnötige Weiterverdünnung der Seren zu verhindern. Die Seren-Erythrozytengemische wurden über Nacht im Kühlschrank gelagert und anschließend zentrifugiert.

3.1.3.2.2. Inhibitorbehandlungen

Folgende Methoden zur Eliminierung unspezifischer Inhibitoren testeten wir auf ihre Verwendbarkeit für HAH-Teste mit Reoviren:

1. Heparin-Manganchlorid-Behandlung (43)

Zu 1 ml inaktiviertem Serum wird 0,05 ml einer molaren Manganchlorid-Lösung und 0,04 ml Heparin (5.000 J.E./ml) gegeben. Dieses Gemisch soll bei + 4°C unter häufigem Schütteln 20 Minuten lang bei Zimmertemperatur inkubiert und anschließend bei 3.000 U/Min. 10 Minuten zentrifugiert werden.

2. Kaolin-Behandlung nach Mann (43)

3,5 ml einer 25 %igen Kaolinsuspension (säuregewaschenes Kaolin in physiol. Kochsalzlösung) werden 0,5 ml inaktiviertem Serum zugesetzt. Nach einstündiger Inkubierung bei Zimmertemperatur wird das Kaolin durch Zentrifugieren bei 3.000 Umdrehungen/Minute über 10 Minuten abgetrennt. Die Serumsverdünnung beträgt bei dieser Methode ca. 1 : 8.

3. Kaolin-Behandlung nach Antoniadis et al. (1)

0,4 ml inaktiviertem Serum werden 2,1 ml physiologische Kochsalzlösung und 2 ml 25 %ige Kaolinsuspension (säuregewaschenes Kaolin in physiol. Kochsalzlösung) zugegeben. (Kaolinkonzentration im Gemisch 12,5 %).

Bei dieser Methode wird das Serum-Kaolin-Gemisch 20 Minuten unter wiederholtem Schütteln bei Zimmertemperatur gehalten und anschließend vorsichtig zentrifugiert (750 U/Min., 30 Minuten).

Die Serumausgangsverdünnung beträgt hier 1 : 10.

3.1.4. Hämagglutinationshemmungstest (HAH)

Für den HAH-Test wurden die inaktivierten und entsprechend vorbehandelten Seren in 2er Potenzen mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und anschließend jeder Verdünnungsstufe das gleiche Volumen Antigen zugesetzt.

Als Antigen-Arbeitsdosis wurden einheitlich 4 hämagglutinierende Einheiten benutzt. Die Reaktionszeit betrug 1 Stunde bei Zimmertemperatur, sie wurde durch die Zugabe der Erythrozytensuspension abgeschlossen. Abgelesen wurde nach dem vollständigen Absetzen der Erythrozyten.

Als positiv werteten wir nur diejenige Verdünnung, bei der eine vollständige Hemmung der Hämagglutination eingetreten war. Jedem Versuchsansatz liefen entsprechende Kontrollen parallel.

Als Normalserumkontrolle benutzten wir das Mischserum von keimfrei aufgezogenen Ferkeln, als positive Serumkontrolle ein Schweineserum mit einem HAH-Titer von 1 : 40 (nach Kaolin-Behandlung).

Die Antigen-Arbeitsdosis wurde jeweils in 2er Potenzen austitriert, um die korrekte Einstellung der Virussuspension zu prüfen.

Schließlich wurde stets eine Erythrozytenkontrolle angesetzt.

Sämtliche Seren wurden mit der Mikrotechnik getestet, daneben untersuchten wir zu Vergleichszwecken 100 Seren im Röhrchentest.

3.1.4.1. Mikrotest

Für die Mikroteste wurden wegwerfbare Mikroplatten ¹⁾ mit rundem Boden (8 x 12 Löcher pro Platte) verwendet. Für die Herstellung der Verdünnungsreihen und zum Eintropfen von Flüssigkeit diente die Mikrotiter-Einrichtung der Fa. Cooke Engineering Co., Alexandria, Virginia. ²⁾

Die Testergebnisse sind mit einem Hohlspiegel der gleichen Firma abgelesen worden. Für alle Mikroteste ist eine 1%ige Suspension von humanen Erythrozyten der Blutgruppe "O" verwendet worden. Die Ablesung der Ergebnisse war nach 30 Minuten möglich.

3.1.4.2. Röhrchenteste

Bei den Röhrchentesten wurde mit der üblichen Volumengröße von 0,3 ml gearbeitet. Die Erythrozytensuspension war auf 0,4 % eingestellt. Die Ergebnisse konnten nach 1 1/2 Std. abgelesen werden.

1) System Cooke, M 220-24 A, Hersteller Fa. Greiner.

2) Mikroverdünner und Mikrotropfer, Volumengröße 0,025 ml.

3.2. Ergebnisse

3.2.1. Voruntersuchungen

3.2.1.1. Inhibitorbehandlungen

Es ist bekannt, daß Seren vom Menschen und von verschiedenen Tierarten unspezifische Inhibitoren gegen das Reovirus-Hämagglutinin besitzen können (57). Die chemische Struktur dieser Inhibitoren ähnelt sehr stark der von Antikörpern, da beide der Fraktion der Immunglobuline angehören. Es ist deshalb oft sehr schwierig, Inhibitoren zu beseitigen, ohne die Antikörperwerte zu beeinträchtigen. Da die Struktur der Inhibitoren zudem tierartlichen Schwankungen unterliegt, ist es nötig, für jede Tierart gesondert zu prüfen, welche Technik der Inhibitorbehandlung optimal ist.

Zunächst verglichen wir in einem Vorversuch die HAH-Titer von 10 bzw. 16 Seren, die wir verschieden vorbehandelt hatten. Zur Vorbehandlung verwendeten wir 25%iges Kaolin (43), 12,5%iges Kaolin (1) und Heparin-Manganchlorid (43). Die Serumtiter derartig vorbehandelter Seren stellten wir denen von unbehandelten Seren (Inaktivierung, Absorption der Isoagglutinine) gegenüber.

Wie aus der Tabelle 3 hervorgeht, besaßen alle 16 untersuchten Seren, wenn sie unbehandelt im HAH-Test geprüft wurden, Serumtiter gegen den Serotyp 1.

Annähernd die gleichen Ergebnisse brachte die Vorbehandlung mit Heparin-Manganchlorid, d.h. die Serumtitert waren gegenüber der Kontrollen nicht oder nur unwesentlich verändert. Demgegenüber konnten nach der Behandlung mit 25%igem Kaolin keine Antikörper mehr nachgewiesen werden. Die besten Ergebnisse erhielten wir mit der Technik nach Antoniadis (12,5% Kaolin). Während 9 der Seren bei Verwendung dieser Methode ihre Titer verloren, blieben bei den restlichen 7 die Antikörperwerte ungefähr gleich bzw. sanken nur unwesentlich ab. Die Normalserumkontrolle reagierte, bis auf einen kleinen Titer nach der Heparin-Manganchlorid-Behandlung, in dieser Versuchsreihe stets negativ.

Auf Grund dieser Ergebnisse hielten wir die Inhibitorbehandlung mit 12,5%igem Kaolin für optimal und verwendeten sie für alle weiteren Untersuchungen.

3.2.1.2. Vergleich von Mikro- und Röhrchentesten

Viele Arbeitsgruppen verwenden seit langem den zeit- und kostensparenden Mikrotest für Hämagglutinationshemmungsteste. Auch bei den von uns durchgeführten Untersuchungen wurden Mikroplatten benutzt. Um aber gleichzeitig Anhaltspunkte zu gewinnen, in welchen Größenrelationen sich die Ergebnisse aus Mikro- und Röhrchentesten bewegen, wurden die ersten 100 Seren gleichzeitig in beiden Versuchssystemen angesetzt.

61 Seren reagierten sowohl im Mikro- als auch im Röhrchentest negativ. Die Titerdifferenzen der restlichen 39 Seren sind in der Abbildung 1 graphisch dargestellt. Es wurden dabei jeweils die Schnittpunkte der auf der Abszisse eingetragenen "Mikrotiter" und der auf der Ordinate liegenden "Röhrchentiter" im Koordinatensystem markiert. Die Abweichung von der diagonal verlaufenden "Ideallinie" (=totale Übereinstimmung beider Titer) veranschaulicht dabei die Schwankungsbreite der Titerdifferenzen. Eine Verschiebung der Schnittpunkte nach links bedeutet, daß der aus dem Röhrchentest gewonnene Wert höher liegt, während eine Verschiebung nach rechts auf höhere "Mikrotiter" zurückzuführen ist. Wie aus der Abbildung 1 zu ersehen ist, liegen alle Schnittpunkte der Vergleichswerte entweder auf (9 ~~m~~) oder rechts von der Ideallinie. Dies bedeutet, die gewonnenen Werte stimmten entweder überein oder sie waren im Mikrotest leicht erhöht. Die Signifikanzgrenze (für Verdünnungen in 2er Potenzen $0,657 \log_{10}$) wurde dabei in keinem Fall berührt. Es konnte damit bestätigt werden, daß der HAH-Test in Mikroplatten-Serumtitern liefert, die denen aus Röhrchentesten durchaus vergleichbar sind. Bei der Bewertung von "Mikrotitern" muß lediglich darauf geachtet werden, daß sie im Vergleich zu "Röhrchentitern" bis zu einer 2er Potenz höher liegen können.

3.2.2. Ergebnisse der Hämagglutinationshemmungsteste

Die Untersuchung von 500 Schweineseren auf hämagglutinationshemmende Antikörper gegen die 3 bei Säugetieren vorkommenden Serotypen der Reoviren zeigte, daß auch in Bayern Reovirusinfektionen sehr weit verbreitet sind. Dabei spielte es keine wesentliche Rolle, aus welcher Gegend Bayerns und zu welchem Zeitpunkt die Seren gesammelt worden waren.

In den Tabellen 4 bis 6 ist die zahlenmäßige Verteilung der positiven Seren für die 3 nach ihrer Herkunft gegliederten Gruppen im einzelnen zusammengestellt. Wertet man Titer ab 1 : 10 als positiv, was uns bei vorbehandelten Seren als gerechtfertigt erscheint, erreicht fast jeder Serotyp in den 3 genannten Gruppen die 50%-Grenze. Den höchsten Anteil positiver Seren besitzt dabei der Serotyp 3.

Eine gewisse Ausnahme macht nur der Serotyp 2, gegen den in der Gruppe der Seren aus verschiedenen bayerischen Beständen aus den Jahren 1968/69 nur 27,4 % positiv und zudem mit relativ niedrigen Titern reagierten. Diesen Unterschied kann man bei den "Münchener" Seren der gleichen Jahrgänge und den kürzlich in Bayern gesammelten Seren (1970/71) nicht beobachten. Ob dieser Befund zufällig oder seine Ursache in einer zeitlichen und örtlichen Dominanz bestimmter Serotypen zu suchen ist, soll im Zusammenhang mit anderen Ergebnissen noch diskutiert werden.

Die zusammenfassende Auswertung der 500 Seren bestätigt im wesentlichen den bei den einzelnen Gruppen beobachteten Trend (Tabelle 7). Prozentual am stärksten vertreten ist der Serotyp 3 (68 %). Ihm folgt der Serotyp 1 (47,8 %). Der relativ niedrige Durchschnittswert der Häufigkeit von Serotyp 2 (38,8 %) resultiert vor allem aus dem niedrigen Anteil positiver Seren in der "bayerischen" Gruppe 1968/69.

Auch bei den in Bayern durchgeführten serologischen Untersuchungen konnten eine große Zahl von Seren mit Antikörpertitern gegen 2 oder 3 Serotypen gleichzeitig gefunden werden. Die Tabelle 8 und Abbildung 2 geben die errechneten Durchschnittswerte über das Vorkommen derartiger Seren wieder. Die Frage, ob diese "zusätzlichen" Antikörpertiter durch heterologe Mitreaktionen, bedingt durch die enge antigene Verwandtschaft der 3 Serotypen, oder durch gleichzeitig bzw. nacheinander abgelaufene Reovirusinfektionen mit mehreren Serotypen entstanden sind, ist noch nicht geklärt. Vergleicht man aber den Anteil der Seren mit Titern über 1 : 40 in den 3 Gruppen, so fällt auf, daß jeweils nur ein Serotyp deutlich dominiert (Tabelle 9). Beim Serotyp 3 ist dies besonders auffällig. Wertet man Titer ab 1 : 10 als positiv, so liegt sein prozentualer Anteil pro Gruppe bei 61,7 %, 84,0 % und 58,8 % (Tabellen 4 - 6). Werden aber nur diejenigen Seren als positiv gewertet, deren Titer 1 : 40 und

höher sind, stellt man in der Gruppe der "Munchener" Seren 1968/69 eine Reo-3-Verseuchung von 30,5 % fest, während bei den "bayerischen" Seren von 1968/69 (17,8 %) und den "Münchener" Seren von 1970/71 (14,1 %) der Anteil hoher Serumtiter gegen diesen Typ erstaunlich gering ist. Das bedeutet, in den 2 letztgenannten Gruppen überwogen die Seren mit den kleinen Antikörpertitern und damit Tiere, die sich entweder kaum oder vor längerer Zeit mit dem Serotyp 3 auseinandergesetzt hatten. Nur bei der "Munchener" Gruppe 1968/69 war die Zahl der Seren mit hohen Titern gegen den Serotyp 3 verhältnismäßig hoch, was darauf hindeutet, daß bei den Tieren dieser Gruppe ein akutes Infektionsgeschehen mit dem Serotyp 3 zur Zeit der Blutentnahme lief.

Ähnliche Beziehungen können auch für die Serotypen 1 und 2 gefunden werden. Bei den "bayerischen" Seren 1968/69 dominieren hohe Antikörperwerte gegen den Serotyp 1 (32,6 %). In der "Münchener" Gruppe treten die Serotypen 1 und 3 dagegen deutlich hinter dem Serotyp 2 (31,6 %) zurück.

4. Besprechung der Ergebnisse

Erreger spezifischer Seuchen können durch Impfprophylaxe, Chemotherapie und hygienische Maßnahmen unter Kontrolle gehalten werden. Dafür rücken in immer stärkeren Maße sogenannte "Faktorenerkrankungen" in den Vordergrund, die deshalb so schwer erforscht und bekämpft werden können, weil sie erst durch das Zusammentreffen einer Vielzahl von Faktoren zustande kommen. Alle Erreger, die hierbei letztlich das krankmachende Agens darstellen, sind in der Regel in der Population weit verbreitet. Individuen derartiger Populationen erhalten eine "stille Feiung", d.h. sie sind in den ersten Lebenswochen durch die mütterlichen Antikörper geschützt und erwerben im Laufe ihres Lebens durch den ständigen Kontakt mit dem Erreger eine belastbare Immunität. Die Gefahr klinisch inapparenter Infektionen liegt einmal darin, daß ein neu in den Bestand kommendes Tier ungeschützt ist und erkrankt. Zum anderen kann ein Erreger durch schnelle Passagen in neu hinzugekommenen, hochempfindlichen Individuen an Virulanz gewinnen und nun auch für andere Tiere gefährlich werden.

Ganz besonders gefährdet sind durch die in den Beständen persistierenden Erreger die Jungtiere. Sie befinden sich in den ersten Lebenswochen in einer Über-

gangsphase von der passiven, mütterlichen Immunität zur aktiven Immunität. In diesem Zeitraum sind ihre Abwehrmechanismen oft noch nicht genügend ausgebildet, um sie beim Zusammentreffen ungünstiger Faktoren vor einer Infektion mit Erkrankung schützen zu können.

Es ist aus diesem Grunde nicht verwunderlich, daß die Tierhaltungen gegenwärtig vor allem durch Aufzucht-krankheiten undeutlicher Genese belastet werden.

Mit Hilfe von Hämagglutinationshemmungstesten, die nach Rosen (60) und Fairchild (10) für Reoviren sensibler als der Neutralisationstest sind, wurden 500 Schweineseren aus verschiedenen Gebieten Bayerns auf ihren Gehalt an hämagglutinationshemmenden Antikörpern gegen die 3 bei Säugetieren vorkommenden Serotypen der Reoviren geprüft. Der prozentuale Anteil von Seren mit Titern von 1 : 10 und höher, war sehr groß (40 % bis 70 %). Er verteilte sich relativ gleichmäßig auf alle 3 Serotypen.

Ein verhältnismäßig großer Prozentsatz der untersuchten Seren besaß Antikörper gegen mehrere Serotypen zugleich.

Diese Beobachtung wurde häufig bei der Testung von Menschen- und Tierseren gemacht. Dabei wird immer

wieder diskutiert, ob diese Antikörperwerte auf Grund von heterologen Mitreaktionen, die durch die enge antigene Verwandschaft der Reovirus-Serotypen denkbar sind, oder durch eine Infektion mit mehreren Serotypen gleichzeitig oder nacheinander, entstehen.

Nach den vorliegenden Untersuchungen scheinen in Bayern bestimmte Serotypen örtlich und zeitlich zu dominieren. Dieses Geschehen wurde dann deutlich, wenn der Anteil der Tiere mit hohen Serumtitern (1 : 40 und höher) berechnet wurde. (Tabelle 9). Bei dieser Bewertung überwog bei den 3 verschiedenen Gruppen von Seren jeweils nur ein Serotyp. Gleichzeitig konnte festgestellt werden, daß Infektionen mit dem Serotyp 2, die vor 3 Jahren in ihrer Häufigkeit noch an letzter Stelle lagen, in Bayern stark zugenommen haben.

Diese Beobachtungen deuten darauf hin, daß bei den Reovirusinfektionen der Schweine ein gewisses Kommen und Gehen der Serotypen stattfindet. Sie zeigen weiterhin, daß sogenannte heterologe Antikörpertiter zumindest nur zum Teil durch heterologe Mitreaktionen bedingt sind. Vielmehr scheinen sie von weiter zurückliegenden Infektionen mit anderen Typen zu stammen. Da die Seren einer Gruppe aus einem relativ großen Einzugsgebiet stammen, kann vermutet werden, daß die

beschriebenen Verhältnisse bei der Untersuchung kleinerer Populationen klarer hervortreten.

Kasza (31) konnte im Experiment nachweisen, daß der passive Schutz durch kolostrale Antikörper gegen Reoviren beim Schwein verhältnismäßig schnell verschwindet. Vom 12. Lebenstage bis zum 3. Lebensmonat besaßen die von ihm untersuchten Tiere keine Antikörper, obwohl die Muttersauen und ältere Tiere des gleichen Bestandes zu einem hohen Prozentsatz immun waren. Auch wenn man in Betracht zieht, daß Kasza mit dem Neutralisationstest gearbeitet hat, bei dem kleinere Antikörpermengen nicht mehr erfaßt werden, muß doch damit gerechnet werden, daß junge Ferkel in den ersten Lebenswochen eine ausgesprochen lange Phase der erhöhten Anfälligkeit für Reovirusinfektionen durchmachen.

Im Hinblick auf das Kommen und Gehen bestimmter Serotypen, sowie auf die Affinität der Reoviren zum Respirations- und Digestionstrakt muß die Rolle der Reoviren bei der Entstehung von Aufzucht- und Faktoren-erkrankungen beim Schwein einer eingehenden Prüfung unterzogen werden.

5. Zusammenfassung

Das Vorkommen und die Verbreitung von Reoviren der Serotypen 1 bis 3 wurde serologisch durch Überprüfung

von Schweineseren aus verschiedenen bayerischen Beständen mit Hilfe der HAH-Technik untersucht.

Die 500 untersuchten Seren verteilen sich auf:

- a) 230 Seren von Schlachtschweinen aus dem Münchener Schlachthof (1968/69),
- b) 156 Seren von Schlachtschweinen aus verschiedenen bayerischen Schlachthöfen (1968/69),
- c) 114 Seren von Schlachtschweinen aus dem Münchener Schlachthof (1970/71).

Die Untersuchungen weisen eine große Verbreitung der Reovirusinfektionen bei Schweinen nach. 47,8 % der Seren reagierten gegenüber Serotyp 1, 38,8 % gegenüber Serotyp 2 und 68 % gegenüber Serotyp 3 positiv.

Die Ergebnisse lassen erkennen, daß in Bayern bestimmte Serotypen örtlich und zeitlich dominieren. Diese Tatsache wurde dann deutlich, wenn der Anteil der Tiere mit hohen Serumtitern (1:40 und höher) berechnet wurde. Dabei konnte gleichzeitig festgestellt werden, daß Infektionen mit dem Serotyp 2 in den letzten Jahren stark zugenommen haben.

Auf die Bedeutung des Kommens und Gehens von Serotypen in Schweinebeständen wird im Hinblick auf die mögliche Rolle der Reoviren bei der Entstehung von Aufzucht- und Fektorenerkrankungen hingewiesen.

5. Summary

Occurrence and distribution of reoviruses, type 1 to 3, was examined serologically by testing pig sera from different Bavarian areas by means of the HI test.

500 sera with the following origin were tested:

- a) 230 sera came from pigs taken at the slaughterhouse Munich (1968/69).
- b) 156 sera came from pigs taken at different Bavarian slaughter-houses (1968/69).
- c) and 114 sera came from pigs taken at the slaughterhouse Munich (1970/71).

The results indicate that reovirus infections are widespread in piggeries in Bavaria. 47,6% of the sera tested reacted positively with type 1; 33,8 % with type 2 and 68 % with type 3.

The results show also that certain types dominated in Bavaria during the last years with respect to geographical distribution and time. This became evident by considering only animals with serum titers of 1 : 40 and higher. At the same time it could be demonstrated that type 2 infections have increased during the last years in Bavaria.

The importance of "coming and going" of infections with certain reovirus serotypes is discussed with regard to their role in disease of young animals and due to accumulated multiple factors.

Tabelle 1: Systematik der Reoviren

Untergruppe	Virusarten	Serotypen
Reoviren der Säugetiere	Reovirus des Menschen, Affen, Rindes, Schafes, Schweines, Pferdes, Hundes, Katze, Kurz- schwanz- känguruhs, (Quokka, Setonix brachyu- rus) Maus	3
	Hepatoencephalomyeli- tis-Virus (Maus)	identisch mit Sero- typ 3
	Nelson Bay Virus (16) (fliegender Fuchs)	?
Reoviren der Vögel	Reovirus des Geflü- gels, Crawley Virus (Bluecombue der Puten)	5
	Infectious bursal agent (IBA), Gumbo- ro-Virus (88)	
Reoviren der Kaltblüter	Infectious Pancrea- tic Necrosis Virus (Forelle) (51)	
Reoviren der Insekten	Reovirus der Moskitos	?
Reovirus der Pflanzen	Wundtumor-Virus Rice Dwarf Virus	

Tabelle 2: Übersicht über die wichtigsten Eigenschaften der Reoviren

Merkmal	Ausbildung bei den Reoviren
Nukleinsäuretyp	Ribonukleinsäure (RNS), doppelsträngig, 14 %
Molekulargewicht der Nukleinsäure	ca. 10×10^6
Kapsidsymmetrie	kubisch
Zahl der Kapsomeren	92
Virushülle	nein, nackt
Durchmesser des Virion	70 - 77 nm
Durchmesser des Innenkörpers	35 - 45 nm
Dichte	1,36 (1,28 "leere" Kapside)
Ort der Kapsidbildung	Zytoplasma
Einschlußkörper	intraplastmatische, eosinophil
chemisch-physikalische Eigenschaften	äther- und chloroformstabil, trypsininstabil, thermostabil, säurestabil
antigene Struktur	gemeinsames komplementbindendes Antigen, typspezifisches hämagglutinierendes Antigen

Tabelle 3: Verwendbarkeit von verschiedenen Inhibitor-
Behandlungen

(Ergebnisse aus HAH-Testen mit Reovirus,
Serotyp 1)

Serum Nr.	Art der Inhibitor-Behandlung			
	unbehandelt	Kaolin 25%	Kaolin 12,5%	Heparin - Mncl ₂
1	1 : 32	negativ	negativ	1 : 4
2	1 : 32	negativ	1 : 40	1 : 32
3	1 : 64	negativ	negativ	1 : 64
4	1 : 64	negativ	negativ	1 : 64
5	1 : 16	negativ	negativ	1 : 16
6	1 : 32	negativ	negativ	1 : 16
7	1 : 32	negativ	negativ	1 : 16
8	1 : 32	negativ	negativ	1 : 32
9	1 : 64	negativ	1 : 10	1 : 32
10	1 : 64	-	1 : 80	1 : 64
11	1 : 64	-	1 : 40	1 : 32
12	1 : 32	-	negativ	1 : 16
13	1 : 64	-	1 : 20	1 : 64
14	1 : 64	-	1 : 40	1 : 32
15	1 : 64	-	negativ	1 : 16
16	1 : 64	-	1 : 20	1 : 80
spf	negativ	negativ	negativ	1 : 8

Tabelle 4: Ergebnis der Untersuchung von 230 Schweine-
seren vom Schlachthof München auf Antikör-
per gegenüber Reoviren, Serotyp 1 - 3
1968/69

Serumtiter	Reovirus Serotyp 1	Reovirus Serotyp 2	Reovirus Serotyp 3
1 : 10	33 (14,4 %)	26 (11,3 %)	48 (20,9 %)
1 : 20	15 (6,5 %)	16 (7,0 %)	53 (23,0 %)
1 : 40	23 (10,0 %)	11 (4,8 %)	31 (13,5 %)
1 : 80	22 (9,6 %)	7 (3,0 %)	9 (3,9 %)
1 : 160	26 (11,3 %)	4 (1,7 %)	1 (0,4 %)
1 : 320	3 (1,3 %)	- -	- -
1 : 640	1 (0,4 %)	- -	- -
Summe der positiven Seren	123 (53,5 %)	64 (27,8 %)	142 (61,7 %)
Summe der negativen Seren ($< 1 : 10$)	107 (46,5 %)	166 (72,2 %)	88 (38,3 %)

Tabelle 5 : Ergebnis der Untersuchung von 156 Schweine-
seren von verschiedenen bayrischen Schlacht-
höfen auf Antikörper gegenüber Reoviren
Serotyp 1 - 3

1968/69

Serumtiter	Reovirus Serotyp 1	Reovirus Serotyp 2	Reovirus Serotyp 3
1 : 10	30 (19,2 %)	26 (16,7 %)	35 (22,5 %)
1 : 20	13 (8,4 %)	24 (15,4 %)	39 (25,0 %)
1 : 40	12 (7,7 %)	18 (11,5 %)	29 (18,6 %)
1 : 80	3 (1,9 %)	8 (5,1 %)	17 (10,9 %)
1 : 160	4 (2,6 %)	2 (1,3 %)	10 (6,4 %)
1 : 320	1 (0,6 %)	1 (0,6 %)	1 (0,6 %)
1 : 640	- -	- -	- -
Summe der positiven Seren	63 (40,4 %)	79 (50,6 %)	131 (84,0 %)
Summe der negativen Seren ($< 1 : 10$)	93 (59,6 %)	77 (49,4 %)	25 (16,0 %)

Tabelle 6: Ergebnis der Untersuchung von 114 Schweine-
seren von verschiedenen bayrischen Schlacht-
höfen auf Antikörper gegenüber Reoviren,
Serotyp 1 - 3

1970/71

Serumtiter	Reovirus Serotyp 1	Reovirus Serotyp 2	Reovirus Serotyp 3
1 : 10	18 (15,8 %)	8 (7,0 %)	27 (23,7 %)
1 : 20	10 (8,8 %)	7 (6,1 %)	24 (21,0 %)
1 : 40	10 (8,8 %)	11 (9,7 %)	11 (9,7 %)
1 : 80	7 (6,1 %)	8 (7,0 %)	5 (4,4 %)
1 : 160	5 (4,4 %)	11 (9,7 %)	- -
1 : 320	2 (1,8 %)	6 (5,2 %)	- -
1 : 640	1 (0,8 %)	- -	- -
Summe der positiven Seren	53 (46,5 %)	51 (44,7 %)	67 (58,8 %)
Summe der negativen Seren (< 1 : 10)	61 (53,5 %)	63 (55,3 %)	47 (41,2 %)

Tabelle 7: Ergebnis der Untersuchung von 500 Schweineseren
auf Antikörper gegenüber Reoviren, Serotyp 1 - 3
(Hämagglutinationshemmungsteste)

Serumtiter	Reovirus Serotyp 1	Reovirus Serotyp 2	Reovirus Serotyp 3
1 : 10	81 (16,2 %)	60 (12,0 %)	110 (22,0 %)
1 : 20	38 (7,6 %)	47 (9,4 %)	116 (23,2 %)
1 : 40	45 (9,0 %)	40 (8,0 %)	71 (14,2 %)
1 : 80	32 (6,4 %)	23 (4,6 %)	31 (6,2 %)
1 : 160	35 (7,0 %)	17 (3,4 %)	11 (2,2 %)
1 : 320	6 (1,2 %)	7 (1,4 %)	1 (0,2 %)
1 : 640	2 (0,4 %)	- -	- -
Summe der positiven Seren	239 (47,8 %)	194 (38,8 %)	340 (68,0 %)
Summe der negativen Seren (< 1 : 10)	261 (52,2 %)	306 (61,2 %)	160 (32,0 %)

Tabelle 8: Prozentualer Anteil von Schweineseren, die gleichzeitig gegen mehrere Reovirus-Serotypen Antikörper enthielten

hohe Serumtiter		niedrige Serumtiter	
Serotyp	Prozentzahl	Serotyp	Prozentzahl
1	47,8	2	27,4
		3	33,0
2	38,8	1	27,0
		3	29,2
3	68,0	1	33,0
		2	29,4

Tabelle 9: Häufigkeit von hohen HAH-Titern
(Serumtiter 1 : 40 und höher)

Herkunft und Anzahl der Seren	Serotyp 1	Serotyp 2	Serotyp 3
230 "bayerische" Seren 1968/69	32,6 %	9,5 %	17,8 %
156 "Münchener" Seren 1968/69	12,8 %	18,5 %	36,5 %
114 "Münchener" Seren 1970/71	21,9 %	31,6 %	14,1 %

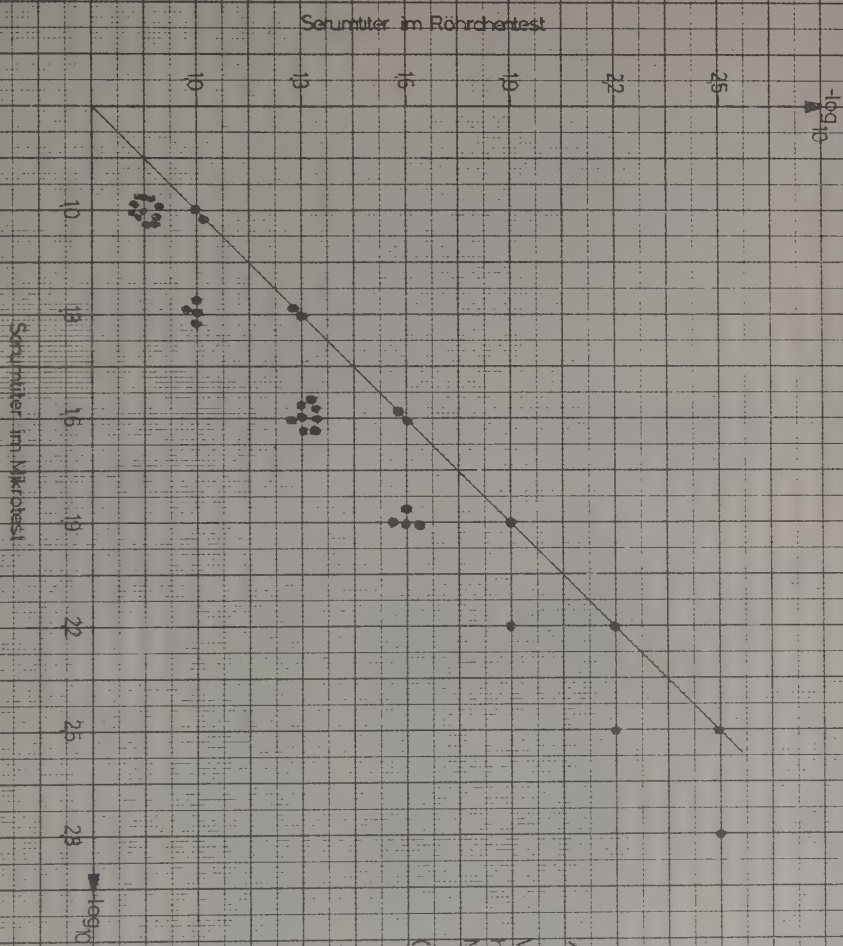


Abbildung 1:

Vergleich zwischen Hämagglutinations-
hemmungstest im Röhrchen und
Mikroplatten

(Serumtitrier: $\cdot 10^3$)

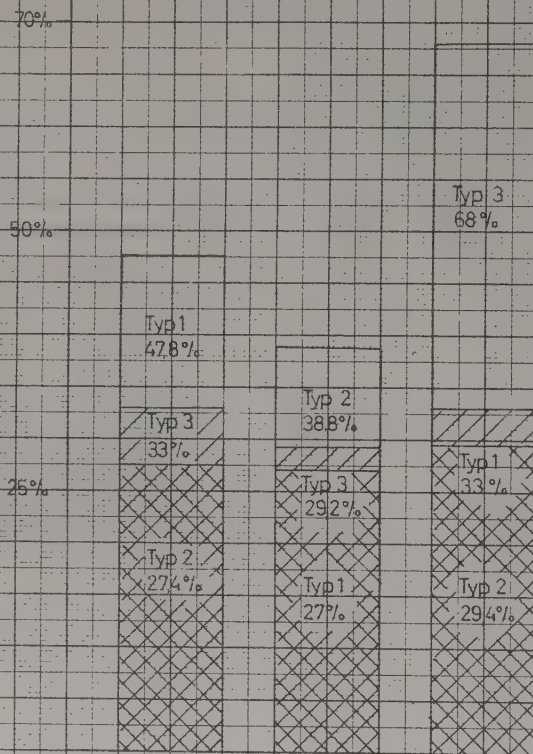


Abbildung 2:

Graphische Darstellung des prozentualen Anteils von Schweineseren, die gleichzeitig gegen mehrere Reovirus-Serotypen Antikörper enthielten.

8. Literaturverzeichnis

1. Antoniadis, G., and
M. Woytek, 1970:
Über die Stammspezifität von
Seruminhibitoren. Vergleichende
serologische Untersuchungen
mit den Influenzavirusstämmen
A₂/Berlin/2/68 and A₂/Hong
Kong/1/68
Zbl. Bakt., I Abt. Orig. 214,
186.
2. Arnott, S., F. Hutchin-
son, M. Spencer, M.H.F.
Wilkins, W. Fuller,
and R. Langridge, 1960:
X-ray diffraction studies of
double helical ribonucleic
acid. Nature (Lond.) 211,
227.
3. Baskerville, A.,
J.B. McFerran, and
T. Connor, 1971:
The pathology of experimental
infection of pigs with type 1
reovirus of porcine origin.
Res.vet.Sci. 12, 172.
4. Bils, R.F., and
C.E. Hall, 1962:
Electronmicroscopy of wound-
tumor virus.
Virology 17, 123.
5. Brubaker, M.M., B. West,
and J.J. Ellis, 1964:
Human blood group influence on
reovirus hemagglutination
titers.
Proc.Soc.exp. Biol. (N.Y.)
115, 1118.
6. Cook, J., 1963:
Reovirus type 3 infection in
laboratory mice.
Aust.J.exp. Biol.med.Sci.
41, 651.
7. Drouhet, V., 1960:
Sur l'effet cytopathogène
du virus ECHO 10.
Ann.Inst. Pasteur 95, 781.

8. Drouhet, V., 1960:
Lésions cellulaires provo-
quées par les réovirus
(virus ECHO 10).
Anticorps fluorescents et
étude cytochimique.
Ann.Inst. Pasteur 98,
618.
9. Eggers, H.J.,
P.J. Gomatos, and
J. Tamm, 1962:
Agglutination of bovine
erythrocytes: A general
characteristic of reovirus
type 3.
Proc.Soc.exp.Biol. (N.Y.)
110, 879.
10. Fairchild, G.A., and
D. Cohen, 1967:
Serologic study of reovirus
infection in dogs.
Am.J.vet.Res. 28, 1487.
11. Gomatos, P.J., and
J. Tamm, 1962:
Reactive sites of reovirus
type 3 and their interaction
with receptor substances.
Virology 17, 455.
12. Gomatos, P.J., and
J. Tamm, 1963a:
The secondary structure of
reovirus RNA.
Proc.nat.Acad.Sci (Wash.)
49, 707.
13. Gomatos, P.J., and
J. Tamm, 1963b:
Animal and plant viruses
with double-helical RNA.
Proc.nat.Acad.Sci (Wash.)
50, 878.
14. Gomatos, P.J., and
J. Tamm, 1963c:
Base composition of the RNA
of a reovirus variant.
Science 140, 997.

15. Gomatos, P.J., and W. Stoeckenius, 1964: Electron microscope studies on reovirus RNA
Proc.nat.Acad.Sci. (Wash.) 52, 1449.
16. Gard, G., and R.W. Compans, 1970: Structure and cytopathic effects of Nelson Bay virus
J. Virol. (Balt.) 6, 100.
17. Halonen, P., 1961: Growth, stability and hemagglutination of reovirus.
Ann.Med.exp. Fenn. 39, 132.
18. Harford, C.G., A. Hamlin, J.N. Middelkamp, and D.D. Briggs, Jr., 1962: Electron microscopic examination of cells infected with reovirus.
J.Lab.clin.Med. 60, 179.
19. Harkness, J.W., M.S. Chapman, and J.H. Darbyshire, 1971: A survey of antibodies to some respiratory viruses in the sera of pigs.
Vet.Rec. 88, 441.
20. Hartley, J.W., W.P. Rowe, and R.J. Huebner, 1961: Recovery of reoviruses from wild and laboratory mice.
Proc.Soc.exp.Biol. (NY) 108, 390.
21. Hartley, J.W., W.P. Rowe, and J.B. Austin, 1962: Subtype differentiation of reovirus type 2 strains by hemagglutination-inhibition with mouse antisera.
Virology 16, 94.
22. Hobbs, T.R., and C.C. Mascoli, 1965: Studies on experimental infection of weanling mice with reoviruses.
Proc.Soc.exp.Biol. (NY) 118, 847.

23. Hull, R.N., J.R. Minner, and J.W. Smith, 1956: New viral agents recovered from tissue cultures of monkey kidney cells.
I. Origin and properties of cytopathogenic agents S.V.₁, S.V.₂, S.V.₄, S.V.₅, S.V.₆, S.V.₁₁, S.V.₁₂, and S.V.₁₅. Amer.J.Hyg. 63, 204.
24. Hull, R.N., and J.R. Minner, 1957: New viral agents recovered from tissue cultures of monkey kidney cells.
II. Problems of isolation and identification.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 67, 413.
25. Hull, R.N. J.R. Minner, and C.C. Mascoli, 1958: New viral agents recovered from tissue cultures of monkey kidney cells.
III. Recovery of additional agents both from cultures of monkey tissues and directly from tissues and excreta.
Amer. J. Hyg. 68, 31.
26. Hsiung, G.D., 1958: Some distinctive biological characteristics of ECHO-10 virus.
Proc.Soc.exp.Biol. (N.Y.) 99, 387.
27. Joklik, W.K., 1970: The molecularbiology of reovirus.
J.Cell.Physiol. 76, 289-302.
ref.in Excerpta Medica, Section 47, 1, 1513. (1971)
28. Jordan, L.E., and H.D. Mayor, 1962: The fine structure of reovirus, a new member of the icosahedral series.
Virology 17, 597.

29. Joske, R.A., P.J.
Leak, J.M. Papadi-
mitriou, N.F. Stan-
ley, and M.N.-J.
Walters, 1966:
Murine infection with reo-
virus:
IV. Late chronic disease and
the induction of lymphoma
after reovirus type 3 infec-
tion.
Brit.J.exp.Path.47, 337.
30. Kasel, J.A., L.Rosen,
and H.E. Evans, 1963:
Infection of human volunteers
with a reovirus of bovine ori-
gin.
Proc.Soc.exp.Biol. (N.Y.) 112,
979.
31. Kasza, L., 1970:
Isolation and characterisation
of a reovirus from pig.
Vet.Rec.87, 681.
32. Kawamura, H., F.
Shimizu, M. Maeda,
and H. Tsubahara,
1965:
Avian reovirus: Its properties
and serological classifica-
tion.
Nat.Inst.Anim. Hlth.quart. 5, 115.
33. Kawamura, H., and
H. Tsubahara, 1966:
Common antigenicity of avian reo-
viruses.
Nat.Inst.Anim.Hlth.quart.6, 187.
34. Kleinschmidt, A.K.,
T.H. Dunnebacke, R.S.
Spendlove, F.L.
Schaffer, and
R.F. Whitcomb, 1964:
Electron microscopy of RNA from
reovirus and wound tumor virus.
J.molec.Biol.10, 282.
35. Lamont, P.H., 1966:
Some bovine respiratory viruses.
Proc.roy.Soc.Med. 59, 50.
36. Lamont, P.H., 1968:
Reoviruses. J. Am. med.
Ass. 152, 807.

37. Langridge, R., and P.J. Gomatos, 1963: The structure of RNA. Reovirus RNA and transfer RNA have similar three-dimensional structures, which differ from DNA. Science 141, 694.
38. Loh., P.C., H.R. Hohl, and M. Soergel, 1965: Fine structure of reovirus type 2. J.Bact.89, 1140.
39. Lou, T.Y., and H.A. Jenner, 1963: Natural and experimental infection of dogs with reovirus, type 1: Pathogenicity of the strain for other animals. Amer. J. Hyg. 77, 293.
40. Macrae, A.D., 1962: Reovirus of man Ann. (N.Y.) Acad.Sci 101, 455.
41. Malherbe, H., R. Harwin, 1957: Seven viruses isolated from the vervet monkey. Brit.J.exp.Path. 38, 539.
42. Malherbe, H., R. Harwin, and M. Ulrich, 1963: The cytopathic effects of vervet monkey viruses. S.Afr.med.J. 37, 407.
43. Mann, J.J., R.D. Rossen, J.R. Learich, and J. Kasel, 1967: The effect of Kaolin on immunoglobulins: An improved technique to remove the non specific serum inhibitors of reovirus hemagglutination. J. Immun. 98, 1136.
44. Masnie, M.L., and M.D. Shaw, 1966: Reovirustype 1 in laboratory dogs. Amer.J.vet. Res. 27, 783.
45. Mayor, M.D., R.M. Jamison, L.E. Jordan, and M.van Mitchell, 1965: Reoviruses. II. Structure and composition of the virion. J.Bact. 89, 1548.

46. McFerran, J.B., R. Viruses isolated from sheep.
Nelson, J.N. McCracken, Nature (London) 221, 194.
and J.G. Ross, 1969:
47. McFerran, J.B., and A reovirus isolated from pigs.
T. Connor, 1970: Res.vet.Sci. 11, 388.
48. McFerran, J.B., Experimental infection of pigs
A. Baskerville, and with a human strain of type 1
T. Connor, 1971: reovirus
Res.vet.Sci 12, 174.
49. Melnick, J.L., 1971: Classification and nomenclature
of animal viruses.
Progr.med.Virol. 13, 462.
50. Miles, J.A.R., F.J. Isolation of reovirus type 3 from
Austin, F.N. Macna- mosquitoes and from bird bloods
mara, and T. Maguire, from South Westland.
1965: Proc.Univ.Otago med.Sch.43, 27.
51. Moss III, L.H., and Ultrastructure and sequential
M. Gravell, 1969: development of Infectious Pan-
creatic Necrosis Virus.
Virology 3, 52.
52. Müller, G., C.C. Zur Feinstruktur des Reovirus
Schneider, and D. (Typ 3). Arch.ges. Virusforsch.
Peters, 1966: 19, 10.
53. Parker, L., E. Baker, The isolation of reovirus type 3
and N.F. Stanley, 1965: from mosquitoes and a sentinel
infant mouse.
Aust.J.exp.Biol.med.Sci. 43, 167.
54. Rhim, J.S., L.E. Jor- Cytochemical fluorescent-anti-
dan, and H.D. Mayor, body and electron microscopic
1962: studies on the growth of reovi-
rus (ECHO 10) in tissue culture.
Virology 17, 342.

55. Rosen, L., J.F. Hovis, F.M. Mastrotta, J.A. Bell, and R.J. Huebner, 1960 a: Observations on a newly recognized virus (Abney) of the reovirus family. Amer.J.Hyg. 71, 258.
56. Rosen, L., and F.R. Abinanti, 1960: Natural and experimental infection of cattle with human types of reoviruses. Amer. J.Hyg. 71, 250.
57. Rosen, L., 1960: Serologic grouping of reoviruses by hemagglutination-inhibition. Amer.J.Hyg. 71, 242.
58. Rosen, L., 1962: Reoviruses in animals other than man. Ann. N.Y. Acad.Sci. 101, 461.
59. Rosen, L., F.R. Abinanti, and J.F. Hovis, 1963: Further observations on the natural infection of cattle with reoviruses. Amer.J.Hyg. 77, 38.
60. Rosen, L., 1964: Reoviruses, in "Diagnostic Procedures für Viral and Rickettsial Diseases". (Lennette and Schmidt, eds.), pp.259. Amer.Public Health Association; Inc., New York.
61. Sabin, A.B., 1956: The significance of viruses recovered from the intestinal tracts of healthy infants and children. Ann. N.Y. Acad. Sci. 66, 226.
62. Sabin, A.B., 1959: Reoviruses: A new group of respiratory and enteric viruses formerly classified as ECHO type 10 is described. Science 130, 1387.

63. Schmidt, J., C. Tauchnitz, and O. Kuhn, 1965: Untersuchungen über das Vorkommen hämagglutinationshemmender Antikörper gegen die Reovirustypen 1 und 2 in der Bevölkerung.
Z.Hyg.Infekt.-Kr. 150, 269.
64. Scott, F.W., D.E. Kahn, and J.H. Gillespie, 1970: Feline Viruses: Isolation, characterization and pathogenicity of a feline reovirus.
Amer.J.vet.Res. 31, 11.
65. Shaver, D.N., A.L. Barron, and D.T. Karzon, 1958: Cytopathology of human enteric viruses in tissue culture.
Amer.J.Path. 34, 943.
66. Shefki, M.D., and W.P.J. Benge, 1969: A trivalent vaccine against virus pneumonia of calves.
Vet.Rec. 85, 582.
67. Bsendlove, R.S., and F.L. Schaffer, 1965: Enzymatic enhancement of infectivity of reovirus.
J.Bact. 89, 597.
68. Spradbrow, P.B., 1968: Antibodies to reoviruses, parainfluenza 3 virus, encephalomyocarditis virus and infectious bovine rhinotracheitis virus in porcine serums.
Aust.vet.J. 44, 320.
69. Stanley, N.F., D.C. Dorman, and J. Ponsford, 1953: Studies on the pathogenesis of a hitherto undescribed virus (hepato-encephalomyelitis) producing unusual symptoms in suckling mice.
Aust.J.exp.Biol.med. Sci. 31, 147.
70. Stanley, N.F., D.C. Dorman, and J. Ponsford, 1954: Studies on the hepato-encephalomyelitis virus (HEV).
Aust.J.exp.Biol.med.Sci. 32, 543.

71. Stanley, N.F., 1961a: Relationship of hepatoencephalomyelitis virus and reoviruses. Nature (Lond.) 189, 687.
72. Stanley, N.F., 1961b: Reovirus - An ubiquitous orphan. Med.J.Aust. 2, 815.
73. Stanley, N.F., and P.J. Leak, 1963: The serologic epidemiology of reovirus infection with special reference to the Rottneest island quokka (Setonix brachyurus). Amer. J.Hyg. 78, 82.
74. Stanley, N.F., P.J. Leak, G.M. Grieve, and D. Perret, 1964: The ecology and epidemiology of reovirus. Aust.J.exp.Biol.med.Sci. 42, 373.
75. Stanley, N.F., P.J. Leak, M.N.-J. Walters, and R.A. Joske: Murine infection with reovirus: II. The chronic disease following reovirus type 3 infection. Brit.J.exp.Path. 45, 142.
76. Stanley, N.F., 1967: Reoviruses. Brit.med.Bull. 23, 150..
77. Streissle, G., and K. Maramorosch, 1963a: Similarities between wound-tumor virus and the human-pathogenic reoviruses. Phytopathology 53, 891.
78. Streissle, G. and K. Maramorosch, 1963b: Reovirus and wound-tumor virus: Serological cross reactivity. Science 140, 996.
79. Taylor-Robinson, D., 1965: Respiratory virus antibodies in human sera from different regions of the world. Bull.Wld Hlth Org. 32, 833.
80. Tournier, P., et M. Plissier, 1960: Le développement intracellulaire du réovirus. Observé au microscope électronique. Presse méd. 68, 683.

81. Trainor, P.D., S.B. Mohanty, and F.M. Hetrick, 1966: Experimental infection of calves with reovirus type 1. Amer.J.Epidem. 83, 217.
82. van Tongeren, H.A.E., 1957: A familial infection with hepato-encephalomyelitis virus in the Netherlands. Study on some properties of the infective agent. Arch.ges.Virusforsch. 7, 429.
83. Vasquez, C., and P. Tournier, 1962: The morphology of reovirus. Virology 17, 503.
84. Walters, M.W.-J., R.A. Joske, P.J. Leak, and N.F. Stanley, 1963: Murine infection with reovirus: I. Pathology of the acute phase. Brit.J.exp.Path. 44, 427.
85. Wallis, C., K.O. Smith, and J.L. Melnick, 1964: Reovirus activation by heating and inactivation by cooling in $MgCl_2$ solutions. Virology 22, 608.
86. Wolf, K., S.F. Snieszko, C.E. Dunbar, and E. Pyle, 1960: Virus nature of infectious pancreatic necrosis in trout. Proc.Soc.exp.Biol.Med. 104, 105.
87. Zalan, E., W.D. Leers, and N.A. Labzoffsky, 1962: Occurrence of reovirus infection in Ontario. Canad.med.Ass.J. 87, 714.
88. Kösters, J., H. Becht und R. Rudolph, 1971: Reinigung und Charakterisierung des Erregers der infektiösen Bursitis der Junghennen. Zbt.Vet.Med.B, im Druck.

9. Lebenslauf

Am 4. Juli 1942 wurde ich, Peter Michael Bruno Wunderlich, als Sohn des Dipl.-Landwirtes Felix Wunderlich und seiner Ehefrau Maria, geborene Allnoch, in Beuthen geboren.

Nach 8 Volksschulklassen in Lunzenau Kr. Rochlitz in Sachsen, trat ich 1956 in das Deutsche Gymnasium in Freising ein und bestand 1964 am Deutschen Gymnasium in München die Reifeprüfung. Im Herbst 1965 begann ich mit dem Studium der Veterinärmedizin an der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München. Mein Studium beendete ich im Herbst 1970 mit dem Staatsexamen.

Herrn Prof. Dr. A. M a y r möchte ich
besonders herzlich für die Überlassung
des Themas und seine freundliche Hilfe
danken.

Fräulein Dr. B i b r a c k danke ich
an dieser Stelle für die jederzeit
bereitwillig gewährte Unterstützung.

